

①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

①2 **Offenlegungsschrift**  
①1 **DE 3903057 A1**

②1 Aktenzeichen: P 39 03 057.1  
②2 Anmeldetag: 2. 2. 89  
④3 Offenlegungstag: 9. 8. 90

⑤1 Int. Cl. 5:  
**A61 K 31/23**  
A 61 K 31/20  
A 61 K 31/355  
A 61 K 31/375  
A 61 K 35/60  
A 61 K 9/10  
// (A61K 9/10,31:23,  
31:20,31:375,31:355,  
35:60)

DE 3903057 A1

⑦1 Anmelder:  
B. Braun Melsungen AG, 3508 Melsungen, DE

⑦4 Vertreter:  
von Kreisler, A., Dipl.-Chem.; Selting, G., Dipl.-Ing.;  
Werner, H., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Schönwald, K.,  
Dr.-Ing.; Fues, J., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Böckmann  
gen. Dallmeyer, G., Dipl.-Ing., Pat.-Anwälte, 5000  
Köln

⑦2 Erfinder:  
Antrag auf Nichtnennung

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4 **Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, ihre Herstellung und Anwendung**

Offenbart wird eine Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, enthaltend  
 $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA),  
bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, dadurch gekennzeichnet, daß die Fettemulsion

- $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen und/oder Fischölfractionen,
  - mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,
  - gegebenenfalls weitere Fette wie mittelkettige Triglyceride (MCT),
  - gegebenenfalls  $\alpha$ -Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche  $\alpha$ -Tocopherolester,
  - gegebenenfalls Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenkliche Ascorbinsäureester sowie
  - übliche Zusatz- und Hilfsstoffe enthält, wobei
  - der gesamte Fettgehalt zwischen 2 und 20% liegt und
  - der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 20% (bezogen auf den Fettgehalt) liegt,
- ihre Herstellung und Anwendung.

DE 3903057 A1

## Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, die Herstellung dieser Fettemulsion sowie deren Anwendung.

5 Das Lungenversagen ist die lebensbedrohliche Folge verschiedener pulmonaler Affektionen und extrapulmonaler Erkrankungen wie Pneumonie, Aspiration, inhalative Noxen, Schock, Sepsis, Trauma, Verbrennung, Intoxikationen und anderem.

Den auslösenden Ursachen ist gemeinsam, daß sie die klassischen Kaskaden-Systeme (Kallikrein-Kinin-System, Komplement-System, Gerinnungs-System) aktivieren. Im Zuge dieser Aktivierung werden Intermediär-  
10 produkte und Endprodukte gebildet, die allesamt den Arachidonsäurestoffwechsel aktivieren und zur Bildung von Prostaglandinen, Thromboxanen und Leukotrienen anregen. Diese zusammenfassend als Eikosanoide bezeichneten Mediatoren bilden aufgrund ihrer vasoaktiven Eigenschaften sowie wegen ihres Einflusses auf Entzündung und Gefäßpermeabilität und in Kombination mit anderen Faktoren eine der Hauptursachen für das Lungenversagen bzw. andere entzündliche, traumatische und allergische Lungenerkrankungen. Außer den  
15 genannten Kaskaden-Systemen wirken auch alveoläre Hypoxie und unspezifische Reize verschiedenster Art (Embolie, Histamin, Toxine) als Stimulatoren des Eikosanoidsystems, indem sie Arachidonsäure aus pulmonalen Membranphospholipiden freisetzen. Dies unterstreicht die entscheidende Rolle der Arachidonsäure und ihrer Folgeprodukte als Endstreckenmediatoren des Lungenversagens (H. Neuhof, Medizinische Welt 35, (1984) 1457 - 1467).

20 Unmittelbar nach ihrer Freisetzung aus Membranphospholipiden entstehen aus der Arachidonsäure Prostaglandine und Thromboxane; von diesen sind das vasokonstriktorisches und proaggregatorische  $TXA_2$  und das zu einer pulmonalen Gefäßverengung führende  $PGF_{2\alpha}$  als wesentliche Faktoren bei der für die Pathogenese des Lungenversagens bedeutsamen Zunahme des pulmonalen Strömungswiderstands bekannt. Weitere Folgeprodukte des stimulierten Arachidonsäurestoffwechsels sind die Leukotriene, die z.T. die Gefäßpermeabilität erhöhen und auf diese Weise die Bildung von Lungenödemen fördern.

Die zentrale Rolle, die die Arachidonsäure in der Pathogenese von Lungenerkrankungen einnimmt, prädestiniert sie zu einem der Hauptangriffspunkte möglicher therapeutischer Interventionen. Hemmstoffe der Phospholipasen, also der Arachidonsäurefreisetzung, Hemmstoffe der Lipoxxygenasen und/oder der Zyklooxygenasen, also der Leukotrien- und/oder Prostaglandinsynthese, sind in diesem Zusammenhang zu nennen und  
30 wurden mit unterschiedlichem Erfolg bereits zur Prophylaxe bzw. Therapie des Lungenversagens eingesetzt.

In jüngster Zeit wurde außerdem vorgeschlagen, die Wirkungen der Arachidonsäure, die zu den  $\omega$ -6-Fettsäuren zählt, durch  $\omega$ -3-Fettsäuren, zu deren Hauptvertretern Eikosapentaensäure und Dokosaheptaensäure gehören, und die natürlicherweise hauptsächlich in Fischölen vorkommen, zu antagonisieren.

Das US-Patent 45 26 902 beschreibt Mischungen aus 25 bis 75 Gew.-% Eikosapentaensäure und/oder Dokosaheptaensäure und einer  $\omega$ -6-Fettsäure, die enteral als Bestandteil von Pharmazeutika oder fetthaltigen Nahrungsmitteln wie Butter oder ähnlichem verwendet werden.

In der EP 01 20 169 B1 sind synthetische Triglyzeride beschrieben, die am mittleren C des Glycerinmoleküls eine mehrfach ungesättigte Fettsäure, vorzugsweise Eikosapentaensäure oder Dokosaheptaensäure, besitzen können. Die so erzeugten Glyzeride können als Nahrungsmittel, Nahrungsergänzungsmittel oder als Arzneimittel  
40 für die therapeutische Ernährung verwendet werden.

Die JP-OS Sho-58-2 30 918 beschreibt eine Eikosapentaensäure enthaltende Emulsion zur oralen und nicht-oralen Verwendung. Diese enthält 1 bis 40 w/v-% Eikosapentaensäure und/oder Dokosaheptaensäure bzw. vorzugsweise deren Methyl- oder Ethylester, 1 bis 30 w/v-% eines Pflanzenöls, vorzugsweise Sojaöl, 0,01 bis 30 w/v-%  $\alpha$ -Tocopherol, und als Emulgatoren 0,1 bis 5 w/v-% eines Phospholipids, vorzugsweise aus Eigelb  
45 und/oder Soja, sowie 0,1 bis 10 w/v-% eines nichtionischen synthetischen Emulgators.

Die DE-OS 34 09 793 offenbart eine flüssige Emulsion zur Transfusion mit antithrombotischer und antiarteriosklerotischer Wirkung, die zur Nahrungsergänzung dienen kann. Sie besteht neben Wasser zu 5 bis 20 w/v-% aus Eikosapentaensäure, Dokosaheptaensäure oder deren Ester und sie ist vorzugsweise ein gereinigtes Fischöl, wie Sardinenöl. Weiterhin enthält sie 1 bis 19 w/v-% eines Pflanzenöls, vorzugsweise Soja- und/oder Saffloröl,  
50 sowie 1 bis 2 w/v-% eines Phospholipidemulgators, vorzugsweise aus Eigelb oder Soja. Dieser Fettemulsion kann als Antioxidans  $\alpha$ -Tocopherol zugefügt werden.

WO 87/02 247 beschreibt Fettemulsionen, enthaltend Fischöle mit hohem Anteil an  $\omega$ -3-Fettsäureestern, die zur intravenösen Anwendung bei der Behandlung thrombotischer Erkrankungen vorgesehen sind.

In der EP-O 2 71 909 wird die Herstellung synthetischer Triglyzeride beschrieben, die als Fettsäuren solche mit einer Kettenlänge von 6 bis 12 C-Atomen, 14 bis 18 C-Atomen (Vorzugsweise Linolsäure) sowie 20 bis 22 C-Atomen (vorzugsweise Eikosapentaensäure) in variablen Kombinationen und Relationen enthalten.

SE 87 05 122-AO beschreibt ein Verfahren zur Herstellung einer intravenösen Fettemulsion, die  $\omega$ -3-Fettsäuren als Bestandteil des Emulgators enthält.

Die DE-OS 37 34 147 betrifft eine isotonische Fettemulsion zur parenteralen Applikation, enthaltend  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA) oder ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, die dadurch gekennzeichnet ist, daß die Fettemulsion

- diese  $\omega$ -3-Fettsäuren oder Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen,
- mittelkettige Triglyzeride (MCT),
- 65 - mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,
- gegebenenfalls mindestens ein  $\omega$ -6-Fettsäuren lieferndes Pflanzenöl,
- $\alpha$ -Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche  $\alpha$ -Tocopherolester, sowie
- übliche Zusatz- und Hilfsstoffe

enthält, wobei

- das Verhältnis von EPA oder ihren physiologisch unbedenklichen Estern zu MCT zwischen 1 : 9 und 3 : 5 liegt,
- der gesamte Fettgehalt zwischen 5 und 30% liegt,
- der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 12% (bezogen auf den Fettgehalt) liegt und
- der Gehalt an  $\omega$ -6-Fettsäuren liefernden Pflanzenölen zwischen 0 und 30% (bezogen auf den Fettgehalt) liegt.

Der Einfluß von Eikosanoiden, die aus  $\omega$ -3-Fettsäuren, vor allem der Eikosapentaensäure, gebildet werden, auf Eikanoide aus der Arachidonsäure kann sowohl unterstützend als auch hemmend sein: unterstützt wird z.B. die vasodilatatorische und antiaggregatorische Wirkung des Prostazyklins ( $\text{PGI}_2$ ) aus der  $\omega$ -6-Reihe durch das analoge  $\text{PGI}_3$  aus der  $\omega$ -3-Reihe, das ein ähnliches Wirkprofil besitzt. Dagegen wird der vasokonstriktorische und proaggregatorische Effekt von  $\text{TXA}_2$  ( $\omega$ -6) durch  $\text{TXA}_3$  ( $\omega$ -3), das biologisch nicht aktiv ist, kompetitiv gehemmt, und  $\text{PGE}_3$  ( $\omega$ -3), selbst weitgehend inaktiv, inhibiert die bronchokonstriktorischen, ödemfördernden und immunsuppressiven Eigenschaften von  $\text{PGE}_2$  ( $\omega$ -6).

Ähnliche Interaktionen wie bei den Prostaglandinen und Thromboxanen treten auch zwischen den Leukotrienen aus der  $\omega$ -6- bzw.  $\omega$ -3-Fettsäurenreihe auf.  $\text{LTB}_4$  ( $\omega$ -6) beispielsweise ist ein hochpotenter Entzündungsmediator, während  $\text{LTB}_5$  ( $\omega$ -3) nur geringe inflammatorische Aktivität zeigt und die Wirkung von  $\text{LTB}_4$  infolgedessen abschwächt.

Sowohl  $\omega$ -6- als auch  $\omega$ -3-Fettsäuren können vom menschlichen Organismus nicht selbst gebildet sondern müssen von außen zugeführt werden, um ihren Bestand im Körper zu sichern. Bei den in Europa und Amerika üblichen Kostformen, der sogenannten "western diet", überwiegen  $\omega$ -6-Fettsäuren bei weitem; auch in der künstlichen enteralen wie parenteralen Ernährung dominieren  $\omega$ -6-Fettsäuren, die infolgedessen auch den Hauptanteil der Fettsäuren in den Membranphospholipiden des Körpers ausmachen. Bei einer Stimulation des Eikosanoidstoffwechsels durch die eingangs erwähnten Noxen überwiegen daher auch diejenigen Eikosanoidwirkungen, die die Entwicklung von Lungenerkrankungen begünstigen.

Die Kenntnis von den in pathologischen Situationen nachteiligen Wirkungen der  $\omega$ -6-Fettsäuren und von ihrer möglichen Antagonisierung durch  $\omega$ -3-Fettsäuren hat zu diätetischen Empfehlungen für die unterstützende Behandlung solcher Erkrankungen geführt, in deren Pathogenese Eikanoide Mediatorfunktion besitzen. Auch für die parenterale Ernährung, in deren Rahmen bisher nur Fettemulsionen mit relativ hohem Anteil von  $\omega$ -6-Fettsäuren und sehr geringem Gehalt von  $\omega$ -3-Fettsäuren zum Einsatz gelangten, wurde eine Änderung dieses Verhältnisses zugunsten des  $\omega$ -3-Fettsäurenteils empfohlen (W. Alexander, Arch. Surg. 121 (1986) 966–972). Dies vor allem deswegen, weil gerade bei Patienten mit absoluter Indikation für parenterale Ernährung, also polytraumatisierten Patienten, Patienten mit Sepsis, Patienten im Streßstoffwechsel, stets das Risiko eines Lungenversagens droht, ein Risiko, das durch den hohen Gehalt von  $\omega$ -6-Fettsäuren in den handelsüblichen Fettemulsionen und der damit verbundenen Stimulierung des Arachidonsäuremetabolismus noch verstärkt wird.

Tierexperimentelle Untersuchungen haben gezeigt, daß es durch Verabreichung von  $\omega$ -3-Fettsäuren im Gegensatz zu  $\omega$ -6-Fettsäuren tatsächlich möglich ist, die im Endotoxinschock gefährdete Lungenfunktion zu verbessern, die Sauerstoffversorgung und die Homöostase der Blutgase aufrechtzuerhalten und die Mortalität zu senken. Demgegenüber zeigten die Tiere, die eine  $\omega$ -6-fettsäurenreiche Diät erhielten, eine metabolische Azidose und höhere Mortalität bzw. kürzere Überlebenszeit (E. Mascioli et al., Clin. Nutr. 4, Special Supplement (1985) 99; E. Mascioli et al., JPEN 11/1, Supplement (1987) 23 S; J.J. Pomposelli et al., JPEN 12/1, Supplement (1988) 9 S). Bemerkenswert ist, daß solche Befunde sowohl unter enteraler als auch unter parenteraler Zufuhr von  $\omega$ -3-Fettsäuren bzw.  $\omega$ -6-Fettsäuren als Kontrolle erhalten wurden.

In den betreffenden Untersuchungen war es allerdings erforderlich, die  $\omega$ -3-Fettsäuren über einen längeren Zeitraum zu verabreichen, um die genannten Wirkungen zu erzielen. Dieser Umstand schränkt den therapeutischen Wert der enteralen oder parenteralen Verabreichung von  $\omega$ -3-Fettsäuren zur Behandlung von Lungenerkrankungen ein. Es besteht statt dessen ein Bedarf an einer Darreichungsform, die die therapeutische Wirkung von  $\omega$ -3-Fettsäuren schneller zur Geltung kommen läßt als bei den bisherigen Anwendungen.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, eine neuartige Fettemulsion zur endotrachealen Applikation bereitzustellen.

Im Gegensatz zu allen bisherigen therapeutischen Ansätzen zur Behandlung von Lungenerkrankungen, die auf der systemischen Zufuhr von Wirkstoffen basieren, und im Gegensatz zu den bisherigen Vorschlägen zur Verabreichung von  $\omega$ -3-Fettsäuren, wurde überraschenderweise gefunden, daß eine hervorragende protektive Wirkung auf die Lunge vor den Folgen eines Endotoxinschocks stets dann erzielt wird, wenn im Tierversuch beispielsweise Ratten mit der Fettemulsion zur endotrachealen Applikation behandelt werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft somit eine Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, enthaltend  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA), bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, die dadurch gekennzeichnet ist, daß die Fettemulsion

- $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen und/oder Fischölfractionen,
- mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,
- gegebenenfalls weitere Fette wie mittelkettige Triglyceride (MCT),
- gegebenenfalls  $\alpha$ -Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche  $\alpha$ -Tocopherolester
- gegebenenfalls Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenkliche Ascorbinsäureester sowie
- übliche Zusatz- und Hilfsstoffe

enthält, wobei

- der gesamte Fettgehalt zwischen 2 und 20% liegt und
- der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 20% (bezogen auf den Fettgehalt) liegt.

5  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere aber Eikosapentaensäure (EPA), bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester können erfindungsgemäß entweder in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen und/oder Fischölfractionen verwendet werden.

Physiologisch und pharmakologisch unbedenklich sind niedere Alkylester bzw. Glycerinester der  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere der EPA. Bevorzugt sind die Ethylester und Triacylglycerole.

10 Geeignete Fischöle sind beispielsweise solche, wie sie technisch in bedeutendem Umfang aus Kaltwasserfischen gewonnen werden. Bevorzugt sind hochgereinigte Fischölkonzentrate oder Fischölfractionen, die beispielsweise aus Makrele, Sardine, Hering oder Lachs gewonnen werden, wobei diese einen EPA-Gehalt von vorzugsweise mindestens 25% (bezogen auf die Fettsäuremethylester des Fischölkonzentrats) besitzen.

15 Als Eventualkomponente "weitere Fette" werden erfindungsgemäß mittelkettige Triglyzeride verwendet, die zu mindestens 90% aus Glyceriden der Caprylsäure und Caprinsäure bestehen. Der Gehalt dieser Komponenten liegt (bezogen auf den lipophilen Anteil der Emulsion) bei 0 bis 90%.

Als Emulgatoren werden physiologisch unbedenkliche Emulgatoren wie Phospholipide tierischen und pflanzlichen Ursprungs verwendet, insbesondere solche aus Hühnereigelb oder Soja.

20 Der Emulgatorgehalt beträgt 5 bis 20% (bezogen auf den Fettgehalt) und der gesamte Fettgehalt der Fettemulsion beträgt zwischen 2 und 20%.

Als Emulgierhilfsstoffe können weiterhin Natriumsalze langkettiger Fettsäuren (bevorzugt in einer Konzentration von 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) und/oder Cholesterin oder Cholesterinester (bevorzugt 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) verwendet werden.

25 Die Fettemulsion weist vorzugsweise einen pH-Wert im Bereich von 6 bis 9 auf.

Weiterhin kann der Fettemulsion gegebenenfalls  $\alpha$ -Tocopherol oder  $\alpha$ -Tocopherol-Ester in einer Menge von 0 bis 100 mg, bezogen auf 100 g Fett, zugegeben werden, insbesondere wenn  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre Ester in Reinform verwendet werden.

Schließlich kann der Fettemulsion gegebenenfalls außerdem Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenklicher Ascorbinsäureester in einer Menge von 0 bis 500 mg, bezogen auf 100 g Fett, zugegeben werden.

30 Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur Herstellung einer Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß man die vorstehend beschriebenen Komponenten zunächst dispergiert und daraufhin homogenisiert.

Die Erfindung betrifft schließlich eine Fettemulsion zur endotrachealen Verwendung bei respiratorischer Insuffizienz, inhalativen Noxen, chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen und Aspirationspneumonie. Weiterhin verwendet man die Fettemulsion zur endotrachealen Ernährung und setzt die Fettemulsion insbesondere bei den vorstehend genannten Indikationen zur Verbesserung der Splanchnikusperfusion und damit zur Steigerung der Klärfunktion des RES ein.

35 In dem betreffenden, unten näher beschriebenen Experiment wurde durch die Infusion von Endotoxin bei Ratten eine Schocksituation erzeugt. An den beiden der Endotoxininfusion vorangehenden Tagen waren die Tiere auf endotrachealem Weg mit entweder einer  $\omega$ -3-fettsäurehaltigen Emulsion (EPA-Ethylester) oder einer  $\omega$ -6-fettsäurehaltigen Emulsion (Intralipid<sup>®</sup>) bzw. mit Kochsalzlösung (als Placebo) behandelt worden. Der Endotoxinschock hatte in der Gruppe mit  $\omega$ -3-Fettsäuren eine signifikant geringere Mortalität als in der Kochsalz-Gruppe und in der Gruppe mit  $\omega$ -6-Fettsäuren zur Folge. Im Gegensatz zu der Placebo-Gruppe und der Vergleichsgruppe mit  $\omega$ -6-Fettsäuren zeigten die Tiere mit  $\omega$ -3-Fettsäuren nur geringe Symptome einer respiratorischen Insuffizienz, und der histologische Befund der Lunge blieb weitgehend normal. Bei der Gruppe mit  $\omega$ -3-Fettsäuren war die Konzentration von TXB<sub>2</sub>, einem stabilen Metaboliten des aus Arachidonsäure gebildeten Thromboxan A<sub>2</sub>, in der Lunge signifikant geringer als bei den beiden anderen Gruppen, ebenso wie die Konzentrationen von PGE<sub>2</sub> und PGF<sub>2a</sub>, die ebenfalls beide aus Arachidonsäure entstehen. Dies beweist die erfolgreiche Hemmung der Arachidonsäuremetabolite durch die erfindungsgemäße Verabreichung von  $\omega$ -3-Fettsäuren und erklärt die bessere Resistenz der mit Eikosapentaensäureethylester behandelten Tiere gegenüber den Folgen des Endotoxinschocks. Diese Resistenz ergibt sich aus der eikosapentaensäureinduzierten Modulation des Wirkungsspektrums von Arachidonsäuremetaboliten, die — wenn sie nicht wie bei der beschriebenen Erfindung antagonisiert werden — die Ausbildung eines Lungenversagens neben anderen Schockreaktionen fördern.

40 Gegenüber allen anderen Anwendungsarten zeichnet sich die erfindungsgemäße endotracheale Anwendung von  $\omega$ -3-Fettsäuren bei Erkrankungen der Lunge dadurch aus, daß die Arachidonsäureantagonisten akut und unmittelbar an das Zielorgan herangebracht werden. Auf diese Weise lassen sich mit geringeren Dosen als bei systemischer (intravenöser oder oraler) Anwendung höhere Wirkspiegel am Ort des Krankheitsgeschehens erreichen, systemische Nebenwirkungen, z.B. eine Hemmung der Prostacyclin-Produktion, lassen sich vermeiden, die Dosierung kann besser an der Wirkung orientiert und variabler gesteuert werden. Außerdem lassen sich eventuell bestehende Störungen der Diffusion vom Gefäß zum Lungengewebe umgehen. Bei bereits beatmungspflichtigen Patienten besteht die Möglichkeit,  $\omega$ -3-Fettsäureester direkt oder mittels Vernebler in den Tubus zu applizieren. Bei nicht beatmeten Patienten läßt sich der Wirkstoff als Aerosol (Inhalationsspray) verabreichen. 65 Derartige Dosieraerosole werden nach allgemein bekannter Technik mit den in dem Abschnitt "Herstellungsbeispiele" näher beschriebenen Emulsionen und den üblicherweise verwendeten Treibgasen/Treibgasgemischen befüllt.

Die Erfindung wird im folgenden durch Anwendungsbeispiele und Herstellungsbeispiele näher erläutert. Bei

den Prozentangaben in der Beschreibung und in den Patentansprüchen handelt es sich, sofern nichts Anderes angegeben, um solche in Gramm pro 100 ml Lösung.

Die Wirkung der erfindungsgemäßen Fettemulsion wird durch folgende Untersuchung näher erläutert:

30 Ratten wurden einzeln in Stoffwechselkäfigen bei einer Raumtemperatur von 22°C und einer Luftfeuchtigkeit von 70% gehalten sowie mit Wasser und Standardfutter ad libitum versorgt. Nach dreitägiger Eingewöhnungsphase wurden die Tiere randomisiert drei Behandlungsgruppen zugeteilt:

Gruppe I: (Plazebogruppe) Behandlung mit physiologischer Kochsalzlösung (Tagesdosis: 10 ml/kg KG);

Gruppe II: Behandlung mit einer 10%igen erfindungsgemäßen Emulsion von Eikosapentaensäureethylester gemäß Herstellungsbeispiel I (Tagesdosis: 10 ml/kg KG);

Gruppe III: Behandlung mit 10% Intralipid<sup>®</sup>; Zusammensetzung: 100 g fraktioniertes Sojaöl, 12 g fraktioniertes Eilecithin und 22,5 g Glycerin, mit destilliertem Wasser auf 1000 ml ergänzt (Tagesdosis: 10 ml/kg KG).

Die Testsubstanzen wurden den Ratten in vier Einzeldosen/Tag an zwei aufeinanderfolgenden Tagen per injectionem über eine Sonde in die Trachea verabreicht. 14 h nach der letzten Injektion erhielten sämtliche Tiere über die Schwanzvene eine achtstündige Endotoxin-Infusion ( $0,7 \text{ mg} \times \text{kg}^{-1} \times \text{h}^{-1}$ ; Kontroll-Standard-Endotoxin von Difco, Detroit). Unmittelbar nach der Endotoxin-Infusion wurden die Tiere getötet und sezziert.

Während der Endotoxininfusion fielen die Tiere der Gruppe I und insbesondere der Gruppe III durch drastisch erhöhte Atemfrequenz und Atemtiefe auf; der Kreislauf war zentralisiert; aus der Nase dieser Tiere trat schaumiges Exsudat.

Demgegenüber ließen die Ratten, die mit der erfindungsgemäßen Fettemulsion auf Basis von Eikosapentaensäureethylester behandelt worden waren (Gruppe II), nur eine geringe Ventilationssteigerung bei weitgehendem Fehlen der übrigen Zeichen erkennen.

Im Vergleich zu der Plazebogruppe (Gruppe I) lag das Lungengewicht bei der Sektion in Gruppe II (Eikosapentaensäureethylester) um durchschnittlich 15% niedriger und in Gruppe III um durchschnittlich 24% höher.

Die histologische Untersuchung von hämatoxylin- und eosinfärbten Lungenschnitten ergab in der Gruppe II einen weitgehend normalen Befund; in den Gruppen I und III wurden dagegen ödematös geschwollene Alveolen mit ausgeprägter leukozytärer Infiltration der Zellen vorgefunden (s. Anlage, Abb. 1a - c).

Nach Homogenisation und Zentrifugation von Lungengewebe, das bei der Sektion entnommen worden war, wurden im Zentrifugationsüberstand mittels handelsüblicher Radioimmunoassay-Kits die Konzentrationen ausgewählter Mediatoren aus dem Prostaglandinstoffwechsel (TXB<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, PGE<sub>2</sub>) bestimmt.

Konzentration der Prostaglandin-Mediatoren im Lungenhomogenat (MW ± SD; pg/ml):

	TXB <sub>2</sub>	PGF <sub>2α</sub>	PGE <sub>2</sub>
Gruppe I:	22,1 ± 3,8	11,0 ± 3,3	7,1 ± 1,7
Gruppe II:	9,9 ± 3,1 <sup>1)</sup>	5,9 ± 2,0 <sup>1)</sup>	3,4 ± 1,6 <sup>1)</sup>
Gruppe III:	30,9 ± 5,8	15,3 ± 3,3	9,2 ± 2,8

<sup>1)</sup>  $p < 0,01$  vs. Gr. I und Gr. III

TXB<sub>2</sub>, ein stabiler Metabolit des stark vasokonstriktorisches TXA<sub>2</sub>, zeigte in der Gruppe II die signifikant niedrigsten Konzentrationen, ebenso das zur pulmonalen Gefäßverengung führende PGF<sub>2α</sub> sowie das broncho-konstriktorische und immunsuppressive PGE<sub>2</sub>. Alle drei Eikanoide entstammen der Arachidonsäure ( $\omega$ -6) und spielen eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese des Lungenversagens (siehe Einleitung). Die geringeren Konzentrationen dieser drei Mediatoren in Gruppe II beweisen die erfolgreiche Hemmung des Arachidonsäurestoffwechsels durch die zugeführten  $\omega$ -3-Fettsäuren und die Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Verabreichung von  $\omega$ -3-fettsäurehaltigen Emulsionen.

Kurz vor der Tötung der Tiere wurden außerdem Blutproben zur Bestimmung der Glukosekonzentration entnommen:

Blutglukose (MW ± SD; mg/ml)

Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
108 ± 12 <sup>1)</sup>	101 ± 10 <sup>2)</sup>	126 ± 16

<sup>1)</sup>  $p < 0,005$  vs. Gruppe III

<sup>2)</sup>  $p < 0,001$  vs. Gruppe III

Die Glukosekonzentration lag unter den endotracheal verabreichten erfindungsgemäßen  $\omega$ -3-Fettsäuren am niedrigsten. Der Anstieg des Blutzuckers in den beiden anderen Gruppen ist Ausdruck einer verstärkten hepatischen Glukoseproduktion, die ihrerseits die Folge einer unter dem vasokonstriktorischen Einfluß von TXA<sub>2</sub> und PGF<sub>2α</sub> verminderten Splanchnikusperfusion darstellt. Unter dem vasodilatatorischen Einfluß von Eikosapentaensäure nimmt dagegen die Splanchnikusperfusion zu und die Glukosehomöostase normalisiert sich. Aus pathophysiologischer Sicht ist die Verbesserung der Splanchnikusperfusion auch deswegen von Bedeutung, weil dadurch die normale Klärfähigkeit der Leber für Bakterien und Toxine wiederhergestellt wird und deren negative Sekundärwirkungen auf die Lunge verhindert werden.

## Herstellungsbeispiele

## Beispiel 1

- 5 Eine Mischung aus 100 g Eikosapentaensäureethylester, 12,0 g gereinigten Eipospholipiden, 100 mg  $\alpha$ -Tocopherol und 0,2 g Natriumstearat wird mittels eines Ultra-Turrax fein dispergiert. Mit Aqua ad iniectionem, das 25,0 g Glycerol und 0,5 mmol NaOH enthält, wird unter Rühren auf 1,0 l aufgefüllt. Diese grobe Voremulsion wird in einem Hochdruckhomogenisator bei einem Druck von 400 kg/cm<sup>2</sup> homogenisiert. Nach Abfüllung in Glasvials geeigneter Qualität wird nach allgemein bekannten Verfahren hitzesterilisiert. Die Teilchen der
- 10 sterilen Emulsion sind kleiner als 1  $\mu$ m.

## Beispiel 2:

- 15 Eine Mischung aus 40 g Eikosapentaensäureethylester, 60 g MCT, 12 g gereinigten Eipospholipiden, 50 mg  $\alpha$ -Tocopherol und 0,2 g Natriumstearat wird, wie unter Beispiel 1 beschrieben, dispergiert und nach Auffüllen mit Aqua ad iniectionem (enthält 50 g Glycerol) auf 2 l homogenisiert, abgefüllt und sterilisiert. Die Emulsionstropfen sind kleiner als 1  $\mu$ m.

## Beispiel 3:

- 20 Eine Mischung aus 300 g hochgereinigtem Fischöl, 15 g gereinigten Sojaphospholipiden, 100 mg  $\alpha$ -Tocopherol, 300 mg Ascorbylpalmitat und 3 g Natriumstearat wird, wie unter Beispiel 1 beschrieben, dispergiert und nach Auffüllen auf 2 l mit Aqua ad iniectionem (enthält 50 g Glycerol) homogenisiert, abgefüllt und sterilisiert. Die Emulsionströpfchen sind kleiner als 1  $\mu$ m.

## Patentansprüche

1. Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, enthaltend  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA), bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Fettemulsion
- 30 –  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen und/oder Fischölfractionen,  
 – mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,  
 – gegebenenfalls weitere Fette wie mittelkettige Triglyceride (MCT),  
 35 – gegebenenfalls  $\alpha$ -Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche  $\alpha$ -Tocopherolester,  
 – gegebenenfalls Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenkliche Ascorbinsäureester sowie  
 – übliche Zusatz- und Hilfsstoffe enthält, wobei  
 – der gesamte Fettgehalt zwischen 2 und 20% liegt und  
 – der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 20% (bezogen auf den Fettgehalt) liegt.
- 40 2. Fettemulsion gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß dieses Fischöl erhältlich ist durch Verarbeitung von Kaltwasserfischen, beispielsweise von Makrele, Sardine, Hering oder Lachs.
3. Fettemulsion gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Fischöl ein hochgereinigtes Fischölkonzentrat mit einem Gehalt an EPA von mindestens 25% (bezogen auf die Fettsäuremethylester des Fischölkonzentrats) ist.
- 45 4. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die als Eventual-Fettkomponenten eingesetzten mittelkettigen Triglyceride zu mindestens 90% aus Glyceriden der Caprylsäure (C<sub>8</sub>) und Caprinsäure (C<sub>10</sub>) bestehen und der Gehalt dieser Komponente 0 bis 90% (bezogen auf den lipophilen Anteil) beträgt.
- 50 5. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß der eingesetzte Emulgator ein Phospholipid tierischen oder pflanzlichen Ursprungs, insbesondere aus Hühnereigelb oder Sojabohne, ist.
6. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß sie weitere Emulgierhilfsstoffe wie Natriumsalze langkettiger Fettsäuren (bevorzugt 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) und/oder Cholesterin oder Cholesterinester (bevorzugt 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) enthält.
- 55 7. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß sie 0 bis 100 mg  $\alpha$ -Tocopherol oder  $\alpha$ -Tocopherolester, bezogen auf 100 g Fett, enthält.
8. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß sie 0 bis 500 mg Ascorbinsäure oder Ascorbinsäureester, bezogen auf 100 g Fett, enthält.
9. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß sie einen pH-Wert im Bereich von
- 60 6 bis 9 aufweist.
10. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur endotrachealen Anwendung als Prophylaxe und Therapie der respiratorischen Insuffizienz.
11. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur endotrachealen Anwendung bei inhalativen Noxen wie beispielsweise Rauchvergiftungen und Verbrennungen der Atemwege.
- 65 12. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur endotrachealen Anwendung bei chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen wie beispielsweise Asthma und chronischer Bronchitis.
13. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur endotrachealen Anwendung bei der Prophylaxe und Therapie der Aspirationspneumonie.

14. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur endotrachealen Ernährung.
15. Verwendung der Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 bei den medizinischen Indikationen gemäß Ansprüchen 10 bis 14 zum Zweck der Verbesserung der Splanchnikusperfusion und damit der Steigerung der Klärfunktion des RES.
16. Verfahren zur Herstellung einer Fettemulsion zur endotrachealen Applikation, enthaltend  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA), bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, dadurch gekennzeichnet, daß man
- $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen und/oder Fischölfractionen,
  - mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,
  - gegebenenfalls weitere Fette wie mittelkettige Triglyzeride (MCT),
  - gegebenenfalls  $\alpha$ -Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche  $\alpha$ -Tocopherolester,
  - gegebenenfalls Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenkliche Ascorbinsäureester sowie
  - übliche Zusatz- und Hilfsstoffe
- durch Dispergieren und anschließendes Homogenisieren zu einer Emulsion verarbeitet, wobei
- der gesamte Fettgehalt zwischen 2 und 20% liegt und
  - der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 20% (bezogen auf den Fettgehalt) liegt.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

Nummer:

DE 39 03 057 A1

Int. Cl.<sup>5</sup>:

A 61 K 31/23

Offenlegungstag:

9. August 1990

Abbildung 1:  
Histologische  
Untersuchung  
von Lungengewebe

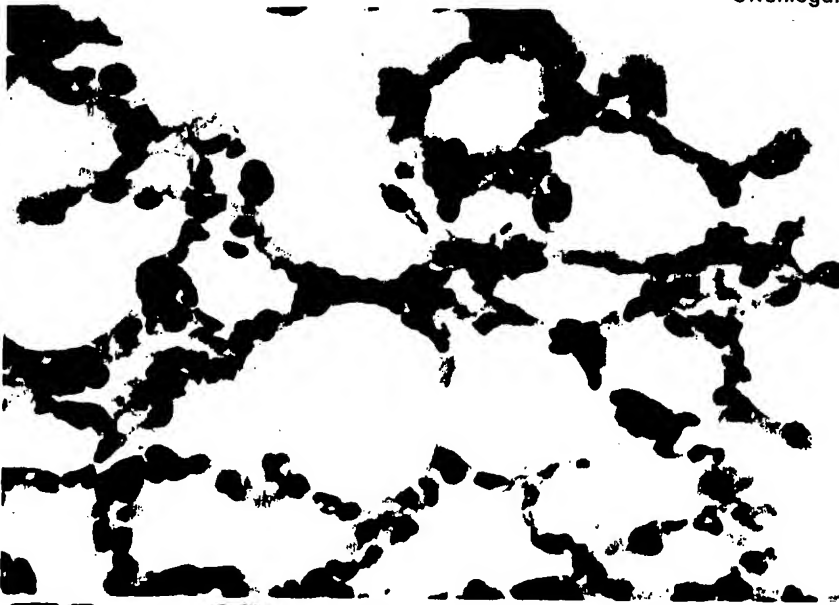


Abb. 1a: Gruppe I



Abb. 1b: Gruppe II

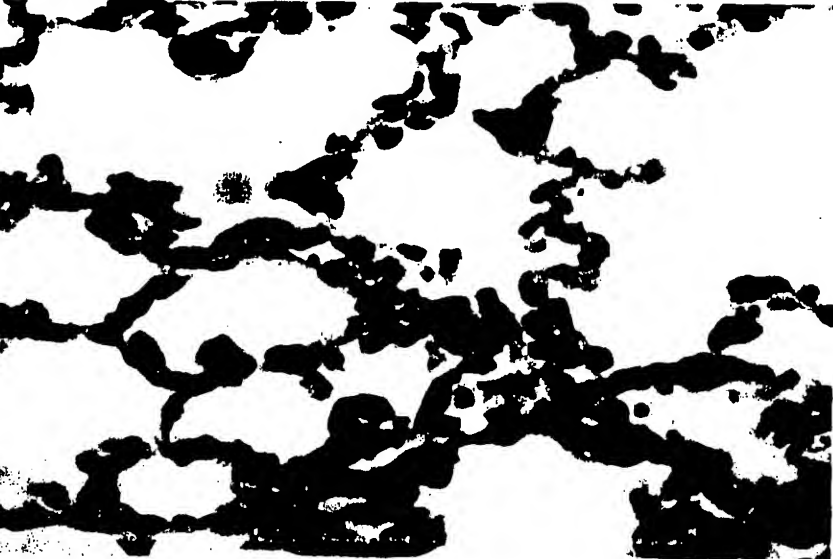


Abb. 1c: Gruppe III

008 032/91